

METABOLISMES OU BIOTRANSFORMATIONS DES XENOBIOTIQUES

Exposition aux xénobiotiques au niveau de :

-Tractus respiratoire -Tractus digestif -Peau -Voies parentérales

Puis arrivée au niveau du compartiment sanguin après passage par le système ADME

•But : détoxification /élimination des xénobiotiques
Lipophilie → hydrophilie = élimination (/ urines)

•Moyens :3 phases essentielles :

-lipophilie **RH**

1/fonctionnalisation ex :-**OH**

ROH

2/ conjugaison

groupement hydrophile endogène **X**

ex :acide glucuronique

-hydrophilie **ROX**

3/ transport (système de P* transporteuses)

sortie de la cellule → élimination de l'organisme (urines)

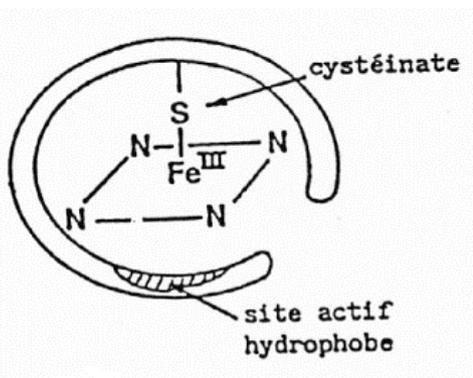
A) REACTION DE PHASE I : FONCTIONNALISATION

réaction d'oxydation ,de réduction , d'hydrolyse

I- Réaction d'oxydation

1- Les mono-oxygénases → greffage d'un atome d'oxygènes sur le substrat

1-1- Mono-oxygénase à cytochrome P450



Hémoprotéine mise en évidence par spectrophotométrie
 λ absorption = 450 nm

composée de : hème (Fe³⁺) + Protéine + cystéinate
+Site actif de CYP450

•CYP450 → localisation cellulaire

-Membrane du RE

-2 éléments indispensables

-NADPH cyp450 réductase

-PL cyp450 (de la mb du RE) : permet la cohésion entre la Mono-oxygénase et la réductase

•CYP 450 → cycle catalytique

1- substrat :benzène lipophile se positionne dans le SA de l'Enzyme

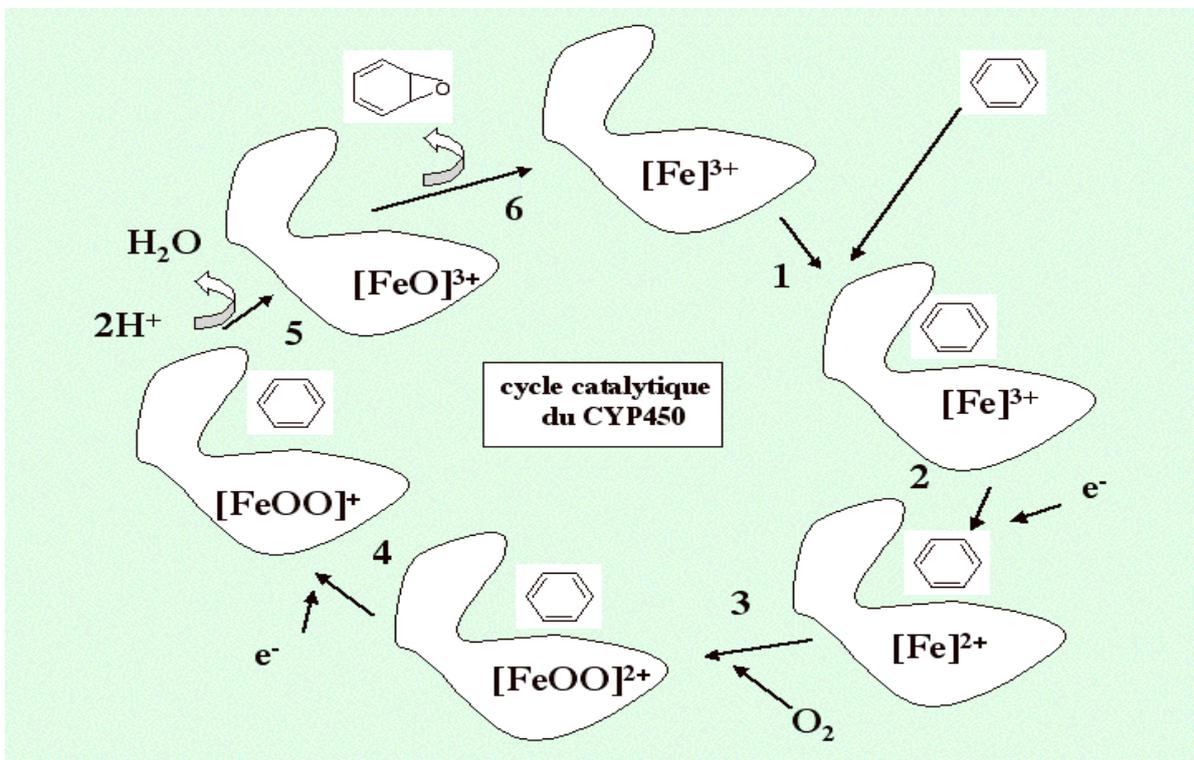
2- arrivée d'un élément fournit par la NADPH cyp450 réductase permet réduire l'atome de fer → Fe²⁺

3- arrivée d'une m* d'oxygène → complexe [FeOO]²⁺

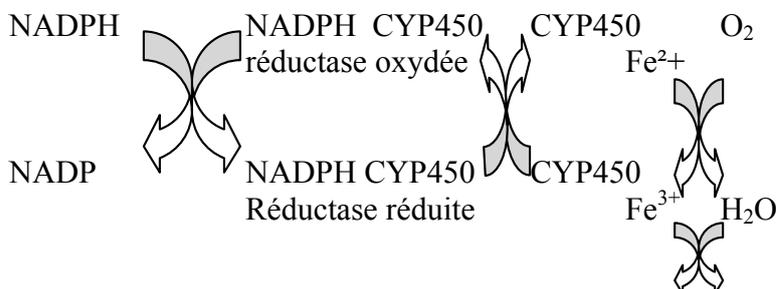
4- arrivée d'un autre élément fournit par NADPH

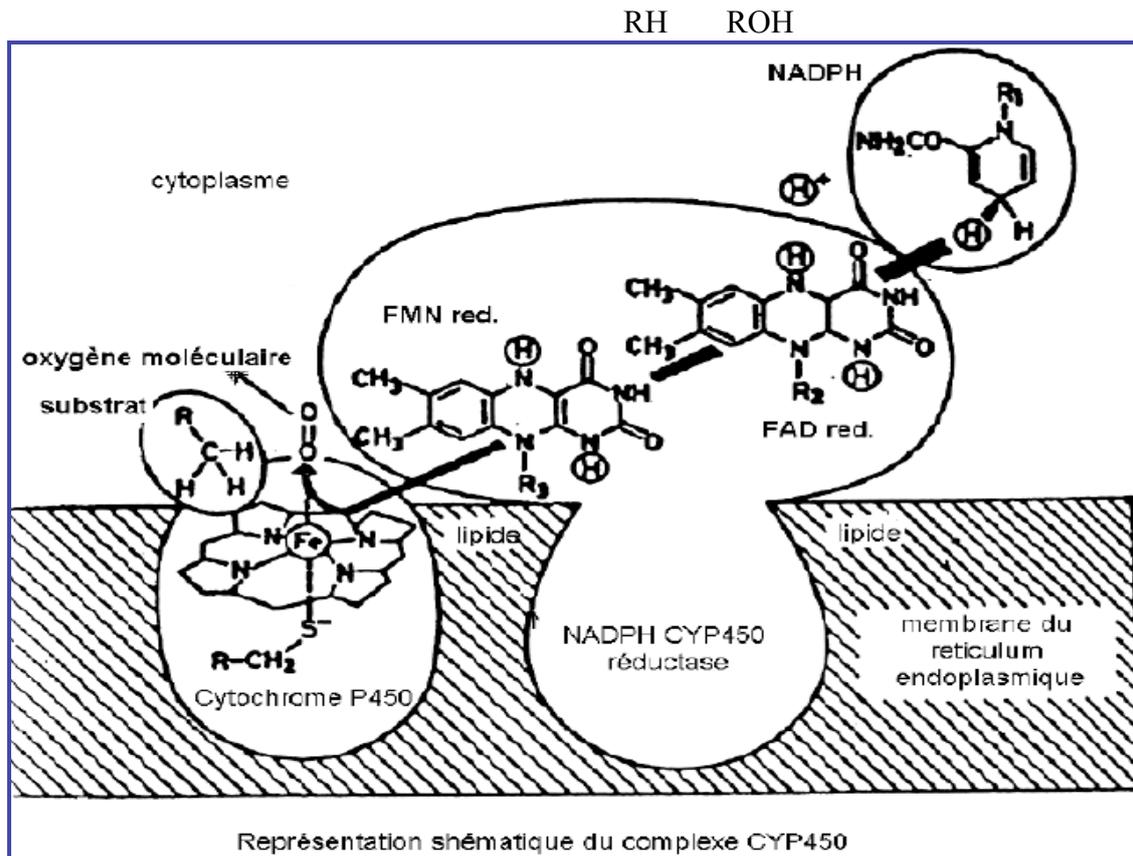
élément réduit [FeOO]²⁺ en [FeOO]⁺ :forme instable très réactive qui permet cassure liaison

scission vs 2 atomes d'O→[FeO]³⁺ :son O se fixe sur le substrat benzène ⇒ Fe³⁺



♦ Réaction générale :





•CYP 450 :principales réactions d'oxydation

- hydroxylation aliphatique : $R-CH_2 \rightarrow R-CH_2-OH$
- hydroxylation aromatique : $\phi-R \rightarrow OH-\phi-R$
- O-,N-,S-, désalkylation : $R-X-CH_2 \rightarrow R-X-CH_2OH \rightarrow HCHO + R-NH_2$ (X=N)
 $R-OH$ (X=O)
 $R-SH$ (X=S)
- N-hydroxylation : $\phi-NH_2 \rightarrow \phi-NHOH$
- N-oxidation , S-oxidation : $R_2N \rightarrow R_2N-\rightarrow-O$ $R_2S \rightarrow R_2S-\rightarrow-O$
- époxydation : $R-CH=CH_2 \rightarrow R-\underset{O}{\text{CH}}-\text{CH}_2$ $\phi \rightarrow$

Parfois ces systèmes toxifient le produit initial (ex :époxyde)

•CYP450 →classification et répartition

-ubiquitaires

-481 isoformes répertoriés (+ de 40 chez l'homme)

-classification en familles ,sous familles :

→homologies de séquence des acides aminés :

-famille :chiffre arabe > 40% d'homologie

-sous famille :lettre > 35%

-isoforme = chiffre arabe

ex :CYP 1A1 et 1A2 ,CYP 2D6 ,CYP 3A4

CYP 450 →classification et répartition

Isoformes impliqués dans le métabolisme des médicaments xénobiotiques

Spécificité :

- relative :un isoforme va métaboliser des substrats différents
ex :aromatiques et éthanol (S)
- chevauchante :un même S est métabolisé par plusieurs isoformes
ex :paracétamol

Répartition :

Tissus (cellules spécialisées :cellules métaboliques compétentes) :

-majoritairement voie d'entrée :

poumons :1A1 2B 3A

Tube Digestif : 3A4/ 3A5 en petite quantité

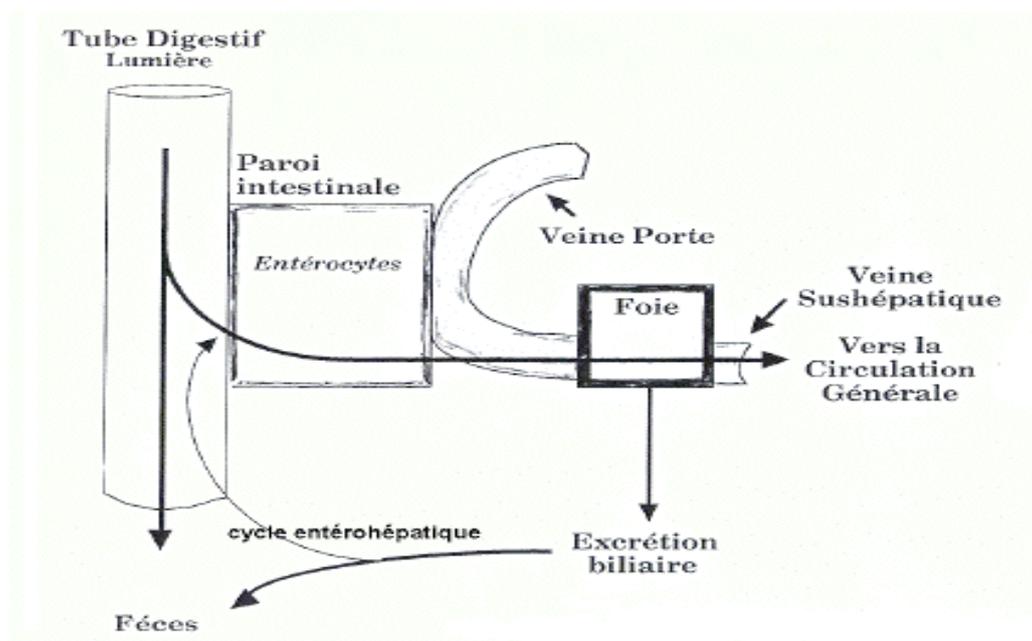
Foie : 3A > 30% (3A4 3A5)
2C 20% (2C8 ,2C9, 2C18 ,2C19)
1A2 10 à 20%
2E1 10 à 20%
2D6 5%

Peau

Et aussi placenta, reins, SN....

Foie :surtout voie orale (organes barrière de cette voie)

→1^{er} passage



•CYP450 → variation du métabolisme

1- espèces

-Variations qualitatives (différents isoformes) et/ou quantitatives (même isoformes à taux différents)

exemple :Rat 2B1=homme 3A 2D

-Métabolites éventuellement différents → extrapolation des études ?

2- âge

- Fœtus :3A7 : un seul isoforme qui n'existe pas chez l'adulte
- Nouveau né :isoformes matures dès la 2^{ème} semaine puis ↑ (→ adulte)
(⇒ fragilité de certains enfants vis-à-vis des xénobiotiques)

3- Pathologies

- Cirrhose ,hépatite ,hépatocarcinome
- Toute atteinte du foie altère ces biotransformations

4- environnement

- Xénobiotiques : -pollution
 - alimentation
 - médicament
- subissent 2 phénomènes :induction et inhibition
→variation des ASC (AUCs = aire sous la courbe)
à l'origine de plus de 50% des interaction médicamenteuses

i) **Induction**

1 inducteur augmente la capacité métabolique d'un isoforme x30
CYP

substance mère \longrightarrow métabolite ↑↑

conséquence:↑ clairance métabolique

PA → métabolite inactif

Si inducteur :↓ [PA] → efficacité thérapeutique ↓

-pro drogue → PA

si inducteur :↑[PA] → surdosage (voir toxicité)

-xénobiotiques → métabolites toxiques

si inducteur :toxicité

◆ exemples :

isoformes inductibles :1A 2C8 2E1 3A4 2D6

inducteurs : phénobarbital (2C ,2D6 ,3A)

éthanol (2 E1)

fumée de cigarette (1A)

◆ mécanismes :

• transcriptionnel :inducteur ↑ transcription de l'isoforme → ↑ synthèse de cette Protéine

•post transcriptionnel :↓ dégradation de la Protéine

processus lent :exposition réitérée

ii) **Inhibition**

1 inhibiteur ↓ la capacité métabolique d'un isoforme
CYP

substance mère métabolite

conséquence :↓ clairance métabolique

-PA → métabolite inactif
si inhibiteur : ↑ [PA] surdosage (toxicité)
♦ mécanisme :

▪ inhibition réversible : inhibiteur non métabolique
fixation réversible sur le site actif : compétition
inhibiteurs : cimétidine (tous CYP)
antifongiques azolés (3A)
antirétroviraux (3A), quinoléine (2D6)
jus de pamplemousse (3A intestinale)

▪ inhibition irréversible : inhibiteur métabolisé
son métabolite inhibe le cytochrome
→ liaison avec le fer ou le N des noyau pyrroles ou l'apoprotéine
→ complexe stable = substrat suicide
⇒ altération réversible de l'isoforme
inhibiteurs : éthymyloestradiol (3A4)
chloramphénicol (2B 2C)
plus dangereux que l'inhibition réversible
Processus rapide : inhibition dès la 1^{ère} exposition

Exemples :

• Millepertuis (hypericine) : inducteur CYP3A4
prise chronique
↓↓ cyclosporine, indinavir → ↓ effet thérapeutique
→ ↓ effet immunosuppresseur → rejet de greffe

• jus de pamplemousse : inducteur CYP 3A4 intestinal dès la 1^{ère} prise
↑ Cisapride (Prepulsid®) → torsade de pointe
(donnée au jeunes enfants pour problèmes de dyspepsie)

• tabac : inducteur 1A

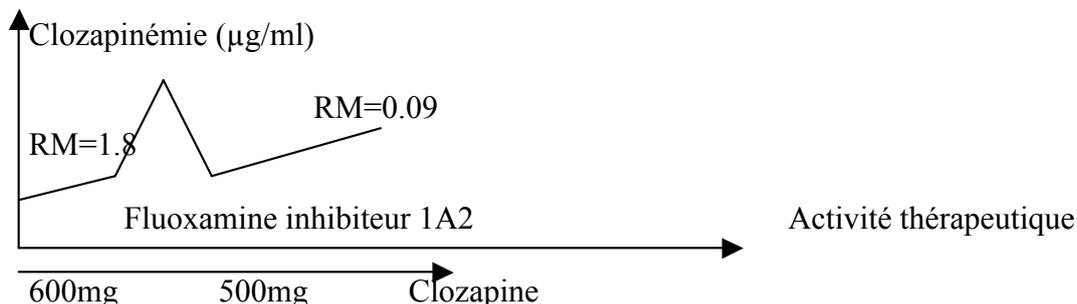
Clozapine : traitement patient schizophrène à forte dose (600 mg) depuis quelques semaines sans réponse clinique :

- observance vérifiée
- dosage plasmatique très bas
- clairance trop élevée ?

→ Clozapine → métabolisée par 1A2

→ patient gros fumeur → induction 1A2

→ test à la caféine → RM paraxanthine / caféine très élevé



5- polymorphisme génétique

Présence au sein de la population d'au moins 2 variants stables d'une même isoforme → capacité métaboliques différentes

◆ mécanisme : mutation

-substitution ou insertion de base

-délétion de base

-défaut d'épissage

ex : codon stop prématuré → Protéine tronquée inactive

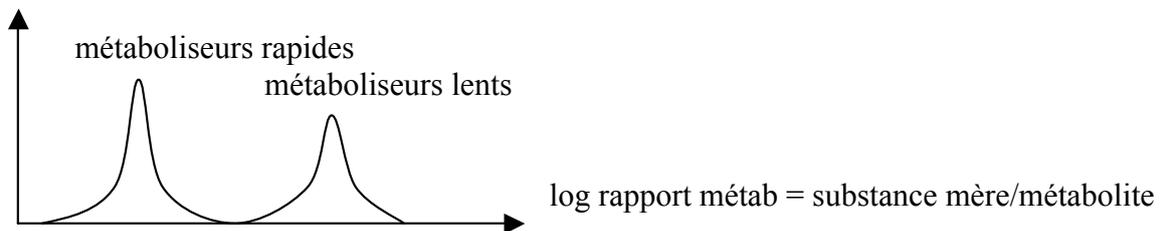
→ en général ,2 phénomènes dans la population :

métaboliseurs lents (limites) : 2 allèles mutés

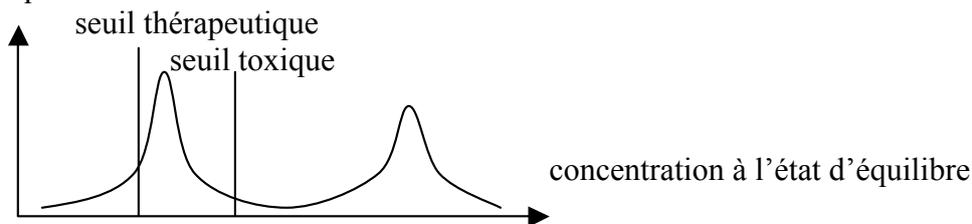
métaboliseurs rapides (extensifs) : 1 ou 2 allèles sauvages

= distribution bimodale

nombre de sujets



fréquence



Polymorphisme connu pour : 2D6 2C19 2C9 1A 2E1 (3A4 ?)

•2D6 : plus de 37 variants connus (génotypes)

•distribution trimodale :

en + métaboliseurs ultrarapides amplification du gène x12

1/métaboliseurs lents : 5 à 10% caucasiens ,africains

1 à 2% asiatiques

2/métaboliseurs rapides : 93%

3/métaboliseurs ultrarapides : 2%

•conséquence :

CYP2D6 : substrats : PA à index thérapeutique étroit

Bêta bloquants ,ATD ,neuroleptiques ,opiacés

→ chez les métaboliseurs lents → surdosage

ex : désipramine (ATD ,tricycliques)

métaboliseurs rapides : $t_{1/2} = 17H$

métaboliseurs lents : 100H → cardiotoxicité
2D6

ex : codéine morphine (très petite quantité en morphine grâce à 2D6)
métaboliseurs lents : pas d'effet analgésique

• CYP2C19 : pop bimodale

métaboliseurs lents : 3 à 5% caucasiens
18 à 23% asiatiques
2C19

ex : proguanil (prodrogue) → métabolite actif
antipaludéen

• CYP 2C9 : 0.5 %

▪ **CYP450 : identification**

• **isoformes impliqués dans la biotransformation**

-études toxicologique : espèces animales
-interaction

Modèles in vivo → in vitro :

Différentes espèces animales

Isoformes spécifiques induites par traitement préalable

Identification CYP 450 en utilisant :

-foie isolé perfusé

-hépatocyte

-microsomes (mb du RE)

-cellules génétiquement modifiées

• **Identification du polymorphisme génétique**

▪ phénotypage

tests respiratoires / urinaires → rapport métabolique

ex : CYP 1A2 : caféine

mesure CO₂ exhalé

N déméthylation CYP 1A2

▪ génotypage : séquençage

• **exemple : CYP 1A**

dans de nombreuses espèces (rat , souris , chien...)

2 membres : CYP1A1 , CYP 1A2 68% d'homologie

substrats :

- xénobiotiques environnementaux → métabolites Kⁿ
hydrocarbures aromatiques polycycliques (NAP)
amines aromatiques , amines hétérocycliques

aflatoxines

- médicaments : caféine , théophylline , olanzapine , imipramine
- CYP 1A1 : surtout extra hépatique (poumon , placenta , peau ..)
- exemple de substrat : Benzo(a) Pyrène (MAP)

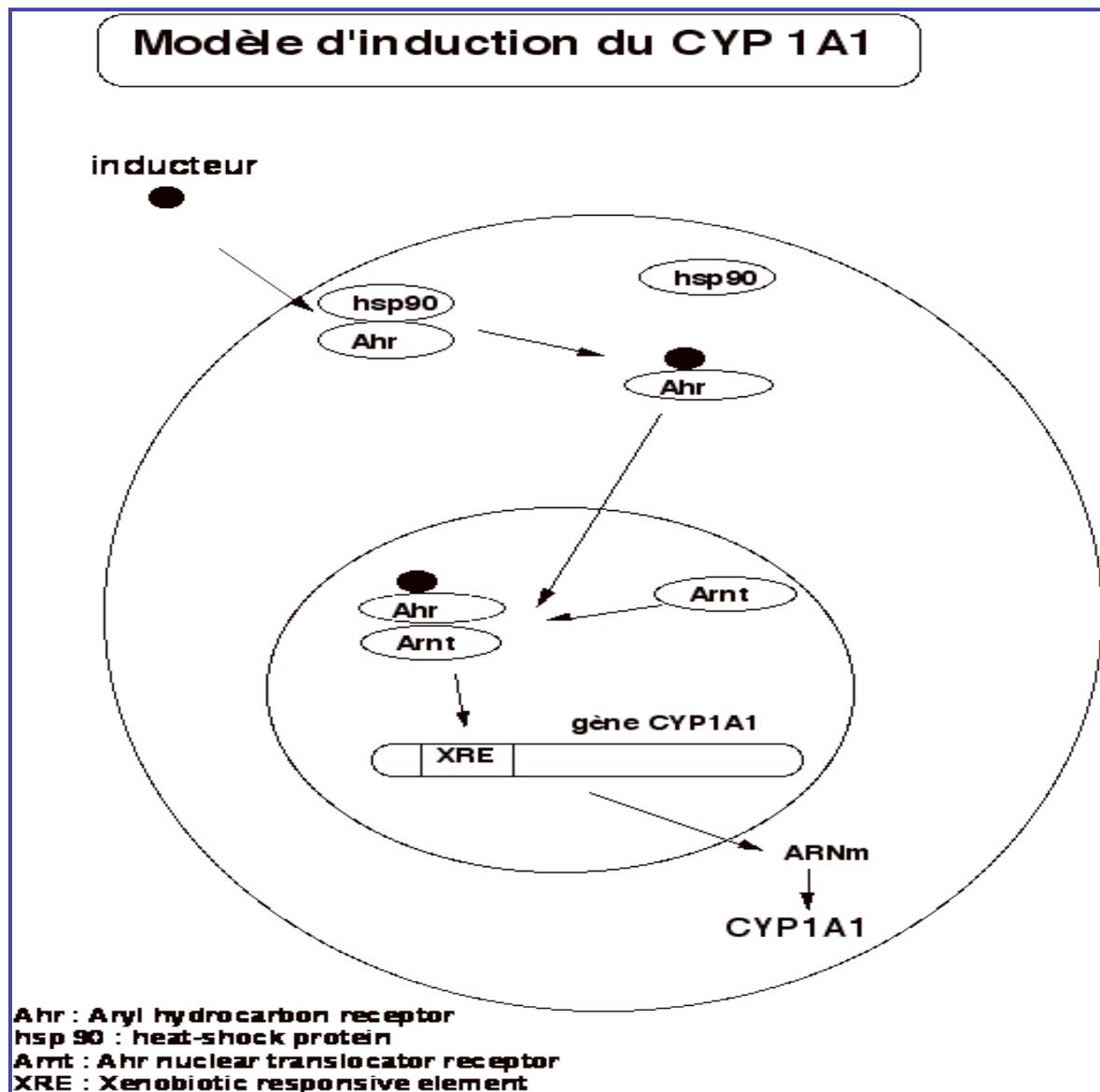


- polymorphisme génétique sur 1A1 : 3 génotypes ABC

C (11% pop) : ce variant a une activité métabolique > à forme sauvage : ↑ 50% activité enzymatique → ↑ susceptibilité cancer du poumon

- induction :

- inducteurs : MAP (fumée de cigarette) , dioxines , caféine , oméprazole
- mécanisme transcriptionnel



Hap: substrat et inducteur → induisent leur propre toxicité !

- CYP 1A2 :hépatique
- expression :grande variabilité interindividuelle
- inductible :régulation mal connue

1-2- Mono-oxygénase à Flavines

dans le réticulum endoplasmique

-5 isoformes (50 à 80% d'homologie) :foie ,poumons ,reins...

-substrat :

- oxydation de xénobiotiques sur un hétéroatome :N ,S ,P
ex :amines ,thiols ,phosphates → N oxyde ,S oxyde..
- minéraux

2- Enzymes autres que les mono-oxygénases

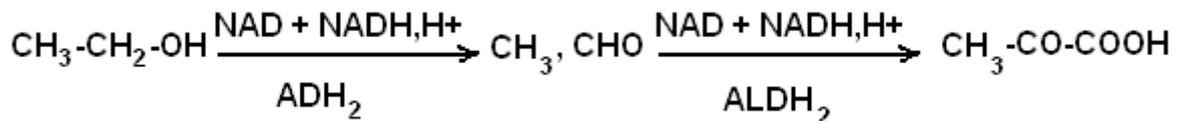
2-1- Déshydrogénases

alcool DH =ADH

aldéhyde DH=ALDH

a) Substrat:

alcools et aldéhydes aliphatiques et aromatiques



b) Famille :

- ADH :6 classes (dimères ,sous unité)
 - classe I :3 isoformes :ADH1 (α) ,ADH2 (β) et ADH3 (γ) hépatique
→ alcools aliphatiques de PM faible
 - classe II :peu abondante ,foie (π) ADH4
→alcools aromatiques
 - classe III : foie ,(χ) abondance nette entre I et II
→alcools aliphatiques de PM élevé
 - classe IV (estomac)
→catalyse aussi oxydation de l'éthanol
 - classes V et VI ?
- ALDH (aldéhyde DH) :3 isoformes
 - ALDH 1 et ALDH 3 cytosoliques →variété de substrats :ALDH1 hépatique ,ALDH 3 extra hépatique
 - ALDH2 :mitochondriale activité élevée → aldéhyde aliphatique de faible PM

Polymorphisme génétique

- ADH2 (alcool DH) : 3 variants

1 forme sauvage ADH2*1
2 formes atypiques ADH2*2, ADH2*3 : ↑ activité

%ADH	2*1	2*2	2*3
américains blancs	>95	<5	0
européens blancs	>85	<15	0
asiatiques	15	85	0
noirs	85	0	15

⇒ production importante d'acétaldéhyde (si 2 allèles mutés)

ALDH2 : 2 variants

1 formes sauvage ALDH2*1
1 forme atypique ALDH2*2 inactive
ALDH2*2 10 à 50 % asiatiques
40% indiens d'Amérique
0% caucasiens

⇒ accumulation d'acétaldéhyde (si 2 allèles mutés)

polymorphisme sur ADH et/ou ALDH

→ « Flushing syndrome » = réaction d'intolérance = effet antabuse

Conséquence clinique d'une accumulation d'acétaldéhyde

vasodilatation (rougeur) tachycardie → sueur nausée vomissement → intolérance alcool

→ protection contre alcoolisme (ALDH2*2)

2-2- Monoamine oxydases

2 formes : A et B

→ foie et SN : réaction de désamination oxydative

$R-CH_2-NH-R_1R_2 \rightarrow R-CHO + HNR_1R_2 + H_2O_2$

⇒ cas de toxification quand héroïne contenant impureté → dégrade neurones → Parkinson

2-3- Prostaglandine synthase ou cyclo-oxygénase (Cox)

acide arachidonique → PG G2 → PG H2

2 activités : oxygénase

peroxydase → co-oxydation de grande variété de S : B[a]P, aflatoxines...

→ réaction d'époxydation, formation de radicaux libres

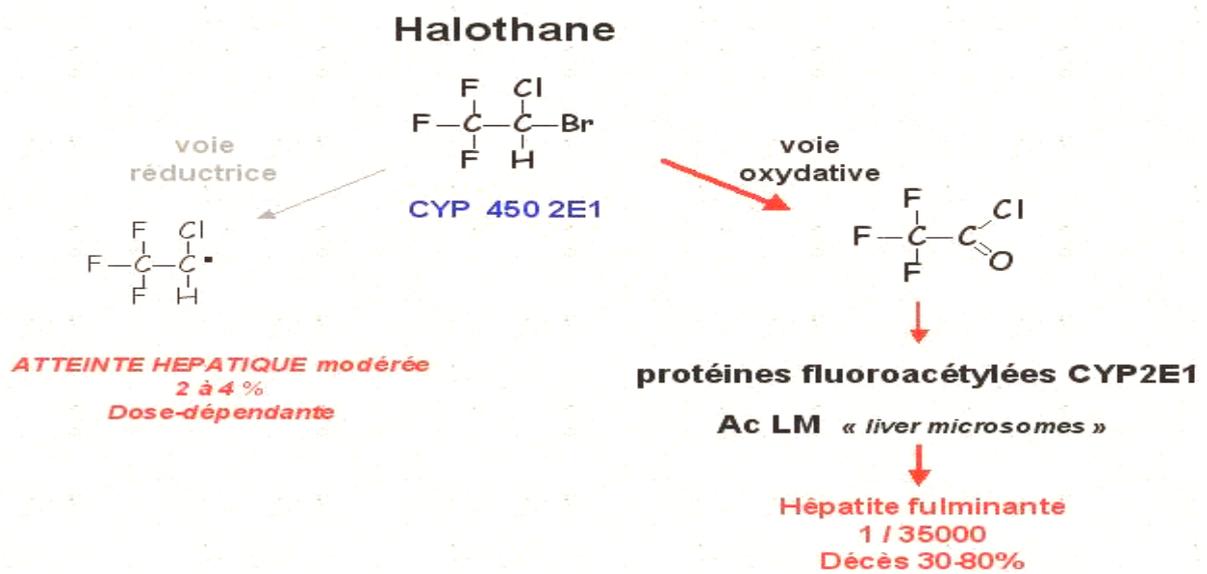
⇒ voie de toxification

II- Réaction de réduction

Peu courante

Mais CYP450 Fe^{2+} puissant réducteur → voie de toxification

Exemple : Halothane (gaz anesthésiant)



III- Réaction d'hydrolyse

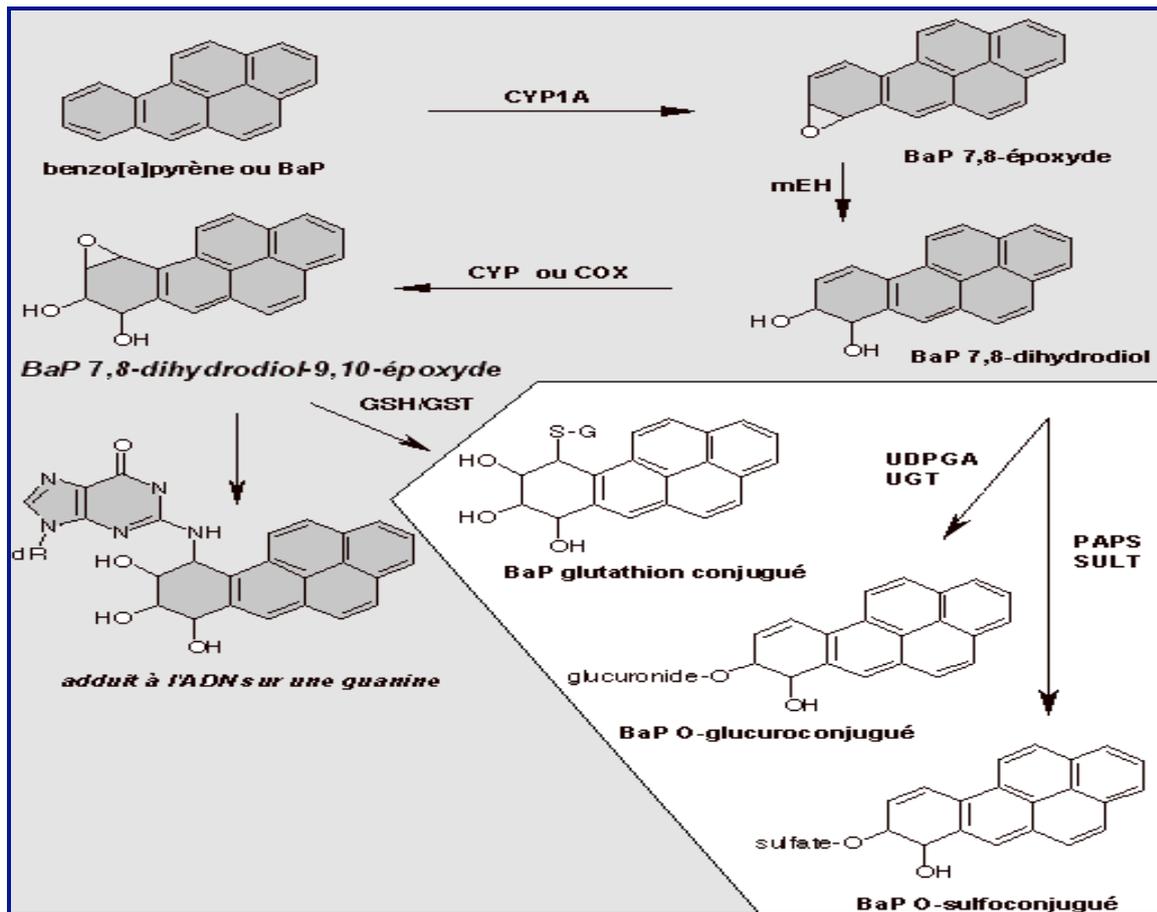
Estérases ,amidases ,peptidases

⇒ époxyde hydroxylase

•substrat :époxyde ,arène oxydes

→voie de détoxification

•réaction :trans-addition d'eau ⇒ dihydrodiol



5 classes :

-mEH (microsomale) xénobiotique

-autres :substrats endogènes

mEH :faiblement inductible (phénobarbital ,HAP) x10

inhibiteurs :acide valproïque (DEPAKINE®) hydrocarbure aromatique polycyclique antiépileptique

polymorphisme génétique

B) REACTION DE PHASE II : CONJUGAISON



↓
conjugaison avec un composé endogène

⇒formation d'un composé polaire

6 réactions :

-glucuroconjugaison

-glutathion

-acétylconjugaison

-sulfoconjugaison

-méthylconjugaison

-conjugaison aux acides aminés

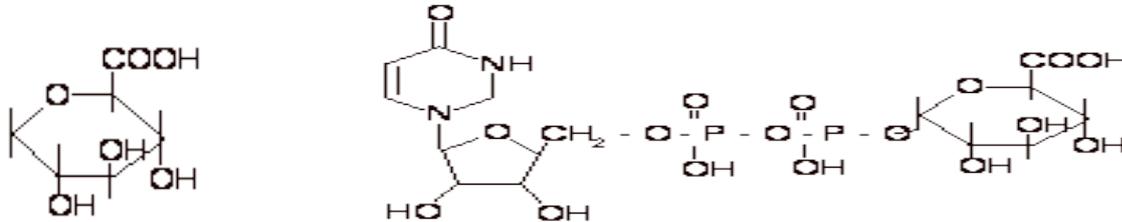
I- Glucuroconjugaison

Voie principale

1- Composé endogène :

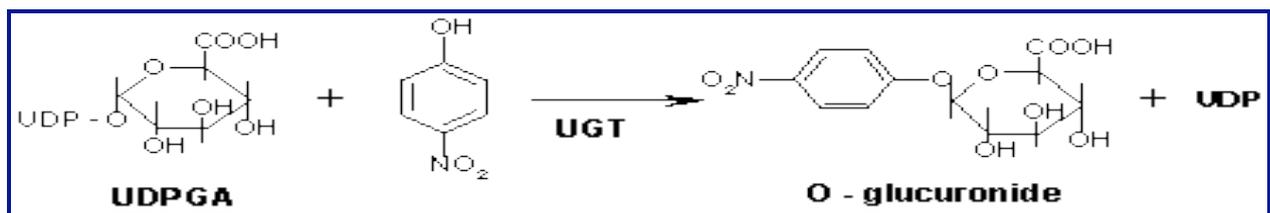
acide glucuronique

forme activée :UDP GA acide uridine (diphosphate D glucuronique)



2- Enzyme :

uridine diphosphoglucuronyl transférase :UGT



surtout :foie ,intestin ,rein

chez l'homme :13 isoformes dans 2 familles :

- UGT1 :1 gène avec 16 exons → 8 transcrits
- UGT2 :5 gènes indépendants

3- Substrats :fonction nucléophile :

-OH , -COOH , -NH₂ , -NHR , -SH

S endogène :bilirubine ,hormone...

Xénobiotique

4- Réaction :

->-O ,N ,ou S-glucuronide :polaire → urine ou bile

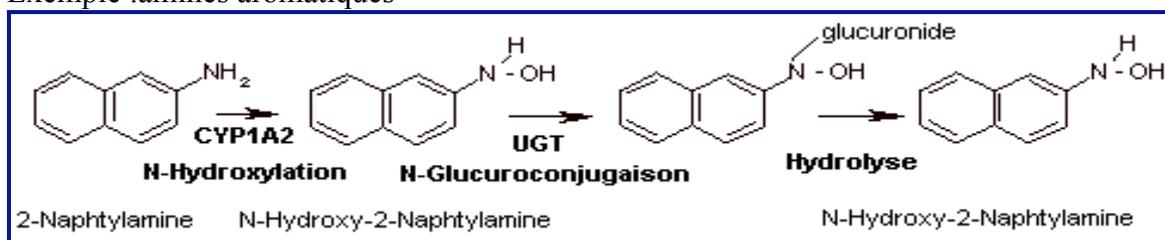
5- Toxication :oui dans quelques cas

hydrolyse du conjugué

- pH (urines)→hydrolyse et rupture liaison vs glu et S
- β glucuronidases bactérienne intestinales (virales)

Ar-NOH – glucuronide → Ar-NHOH ↔ Ar-N⁺ OH⁻ ion nitrénium électrophile→ cancer

Exemple :amines aromatiques



Pb :colorant capillaire contient souvent amine aromatiques → cancer de la vessie fréquent
⇒ électrophile → adduits sur l'ADN → cancer de la vessie

6- Variations :

- espèces : chat → O
rat GUNN :déficient en UGT1
- âge :naissance
- environnementales :inductibles :HAP ,phénobarbital ,éthanol...
- polymorphisme génétique

NB : bilirubine UGT1

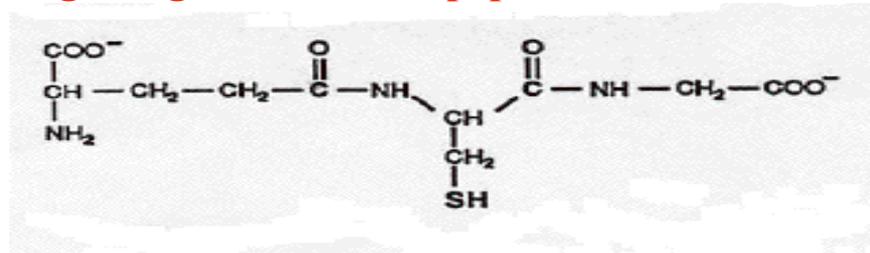
→homme :mutation sur UGT1A1 → hyperbilirubinémie
syndrome de Gilbert et syndrome de crigler Najjar (mortel à la naissance)

II- Glutathion conjugaison

Voie importante de détoxification

1- Composé endogène :glutathion = tripeptide

Groupe SH



2- Enzyme:

glutathion S transférase = GST

chez l'homme :

au moins 5 sous familles :Aα ,Mμ ,Pπ ,Tτ ,Zζ (40% d'homologie)

>20 isoformes :A1 ,A2 ...M1 ,M2 ...

- cytosol (A,M P T)+ RE (Z) + noyau
- surtout foie ,reins ,poumon ,intestin
- pas indispensable à la réaction

3- Substrat :

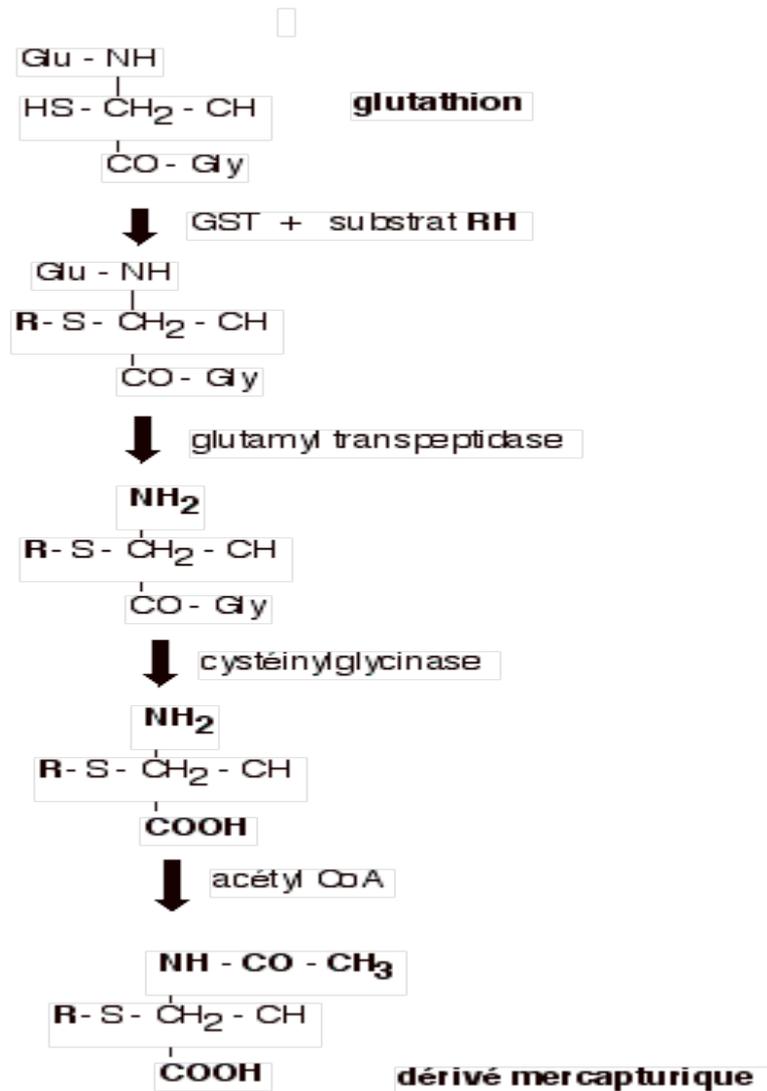
C électrophile (plus rarement N ,O ,S)

→ grande variété de composés environnementaux (carcinogènes (ex :benzo[a]pyrène)

→ médicaments :Paracétamol ,anticancéreux ,(alkylants)...

4- Réaction :

par le SH nucléophile → acide mercapturique polaire



5- Toxicification :

cyclisation → ion épisulfonium :électrophile (liaison potentielle)
 cyclisation spontanée
 alkylation de Macromolécules rénales

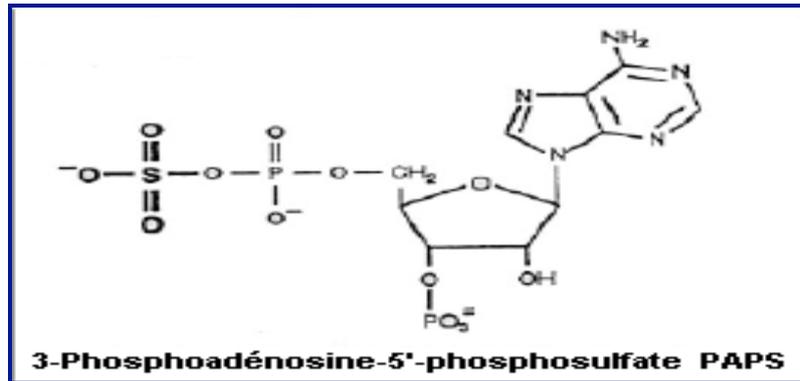
6- Variations:

-inductibles :HAP ,phénobarbital...
 -polymorphisme génétique :M1 ,P1 ,T1 ,M3
 GST M1 :3 variants
 1 variant = délétion du gène 50% caucasiens
 génotype nul (2 allèles)associé avec certains cancer (poumon ,vessie chez les fumeurs)

III- sulfconjugaison

1- Composés endogène :SO₂H

forme active = PAPs



2- Enzyme :

sulfotransférase SULT:

16 isoformes chez l'homme réparties en 3 familles (SULT1, 2 et 3)
cytosoliques, nombreux tissus

3- Substrat :

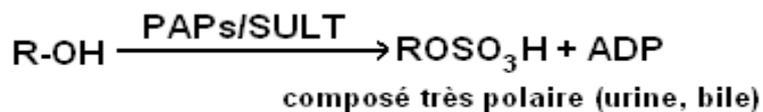
-OH, -COOH, -NH₂, -NHR, -SH

SULT1 → phénols

SULT2 → alcools

SULT3 → amines

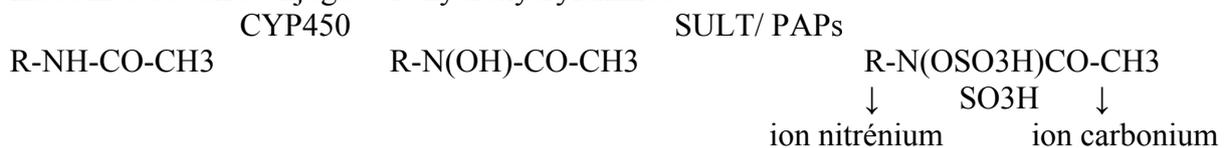
4- Réaction :



Exemple : $\phi\text{-OH} \rightarrow \phi\text{-OSO}_3\text{H}$

5- Toxification

instabilité du sulfoconjugué : N hydroxyarylamines



composé électrophile → adduits sur l'ADN → mutation → cancer

6- Variation

• porc : pas de sulfconjugaison

• environnementales : polymorphisme génétique SULT1A1

IV- Acétyl conjugaison

1- Composé endogène :-CO-CH3

forme activée = acétyl COA

2- Enzyme :

N acétyl transférase :NAT

cytosolique

foie ,intestin ,rein ,poumon...

chez l'homme :2 isoformes :NAT1 et NAT2 xénobiotiques

3- Substrat :

R-NH₂

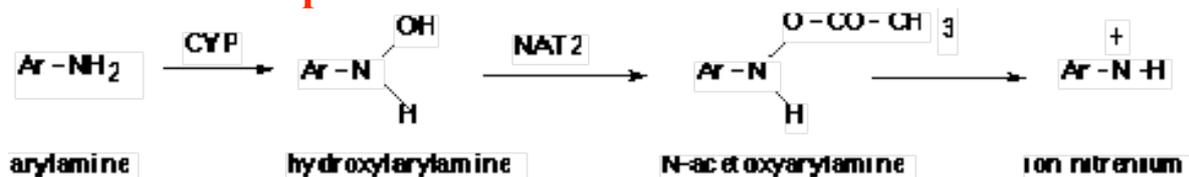
R-NH-NH₂

R-SO₂-NH₂

4- Réaction:

R-NH₂ →R-NH-CO-CH₃

5- Toxification :ponctuellement



6- Variation :

•espèces : chien :pas pour amines I α
 souris :3 isoformes

•polymorphisme génétique :

NAT2 :9 mutation détectées (1 n formes sauvage) dont 4 ont une activité très

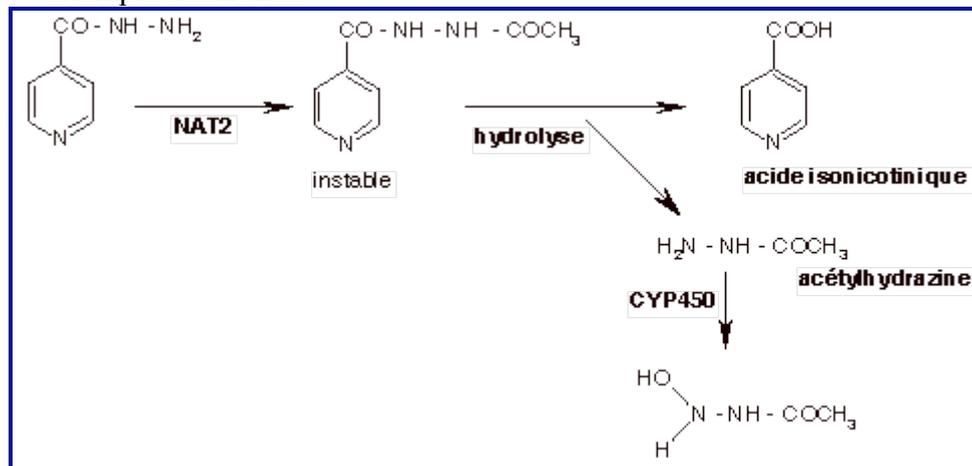
faible :phénotype acétyleur lent

50 à 70% Afrique du nord

50% caucasiens

<25% asiatiques

→ exemple :isoniazide



composé hépatotoxique

1% nécrose hépatique

acétyleurs lents → convulsions
 ⇒ corrélation entre le phénotype acétyleur lent et certains cancers (vessie ,foie ,poumon/fumeurs ,polluants industriels ,cuisson...)

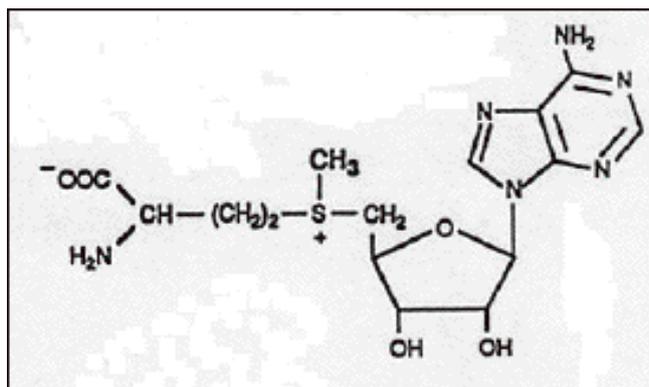
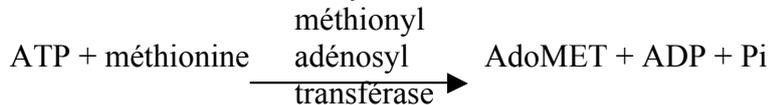
V- Méthyl conjugaison

↓ hydrophilie

1- Composé endogène :

-CH₃

forme activée → S adénosyl méthionine = SAM ou adoMET



2- Enzyme :méthyl transférase MT

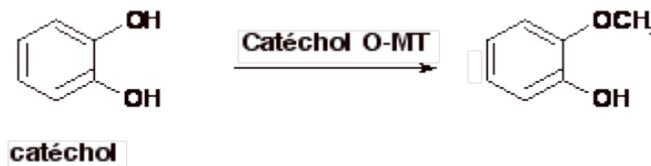
6 isoformes chez l'homme :O- ,N- ,S- méthyl transférases

ex : catéchol O méthyl transférase COMT :O méthylation
 thiopurine méthyl transférase TPMT :S méthylation

3- Substrat :

phénol ,amine ,thiol ,As (arsenic)

4- Réaction :



As³⁺ → acide monométhylarsenic → acide cacodylique ou diméthyl arsenic



→détoxification de l'As

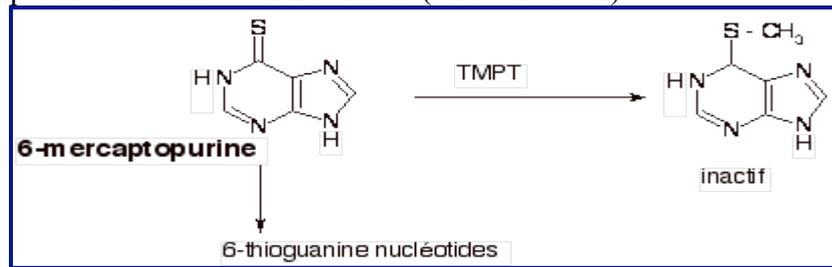
5- Variations :

polymorphisme sur TMPT

→caucasiens : 11% méthyleurs lents

1 personne/300 :activité nulle

ex :6 mercaptopurine :leucémies chez l'enfant (anticancéreux)

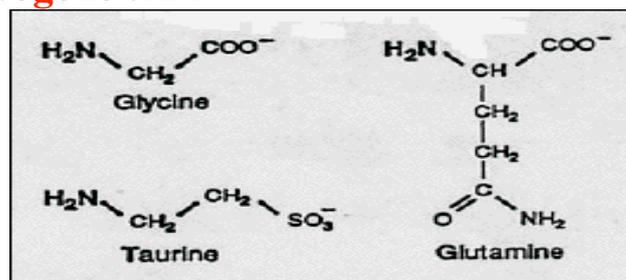


réaction inhibée chez enfant

s'il n'y a pas d'activation par TPMT en méthylthiopurine
 →toxicité médullaire grave par formation de nucléotides

VI conjugaison aux acides aminés

1- Composé endogène :AA



2- Enzyme :

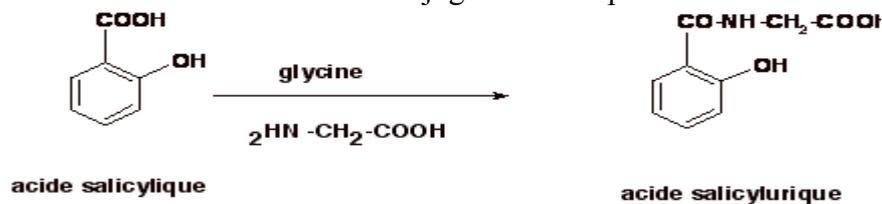
aminoacide transférase

3- Substrat :

-COOH , -NH₂

4- Réaction :

conjugaison avec soit COOH soit NH₂ →conjugué éliminé par les urines



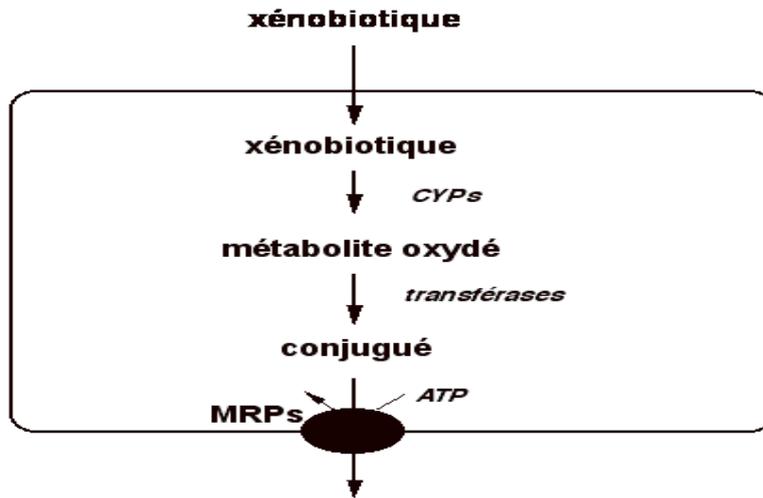
C) PHASE 3 :TRANSPORT

Etape indispensable à la détoxification

Transport du métabolite conjugué hydrophile hors de la c*

P* transporteuse :MRP « multidrug related protein »

7recensées :MRP1 ,MRP2...



Dans tous les tissus

Ex : sur expression corrélée avec résistance aux anticancéreux

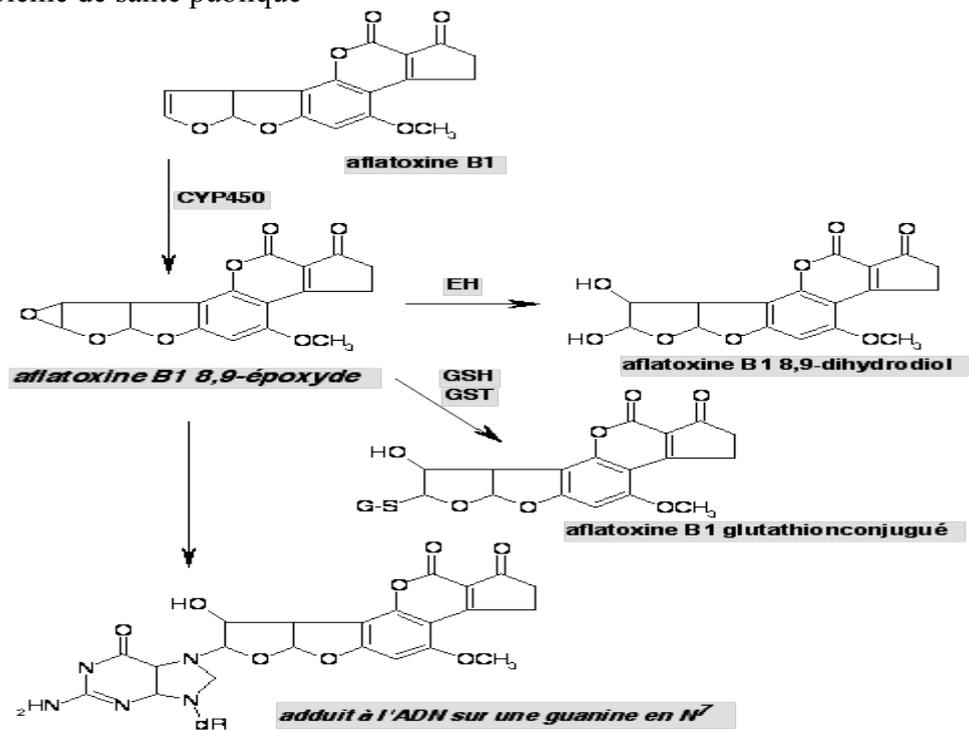
▪ Aflatoxines B1

mycotoxine sécrétée par un champignon du genre *Aspergillus*
 micro-organisme qui contamine les céréales, les arachides et tous les produits dérivés
 exposition par voie alim

le + puissant carcinogène connu → hépato carcinome

zones endémique en Asie et Afrique

gros problème de santé publique



▪ Paracétamol

→ index thérapeutique large

mais quand tentative de suicide

stocke de glutathion limité

si dose importante → dépasse capacité de détoxification

→ voie toxique ⇒ hépatolyse fulminante

pour traiter l'intoxication aiguë → donner GSH
 problème passe mal la membrane → administration de cystéine (partie active du GSH)
 N acétyl cystéine

